

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA

GRADUAÇÃO DE MEDICINA

NÁSCAR KATERINE DO CARMO

MARIA EDUARDA PIRES VAZ

**ANÁLISE *IN VITRO* DA CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO
EXTRATO DAS FOLHAS DE *EUGENIA INVOLUCRATA* DC.**

GOIÂNIA - GO

2025

NÁSCAR KATERINE DO CARMO

MARIA EDUARDA PIRES VAZ

**ANÁLISE *IN VITRO* DA CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO
EXTRATO DAS FOLHAS DE *EUGENIA INVOLUCRATA* DC.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à graduação de Medicina
da Pontifícia Universidade Católica de
Goiás, como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Clayson Moura
Gomes.

GOIÂNIA - GO

2025

AGRADECIMENTOS

Por Náscar Katerine do Carmo:

Em 2018, recém-formada no ensino médio em escola pública, eu comecei minha busca por um sonho: ser médica. Eu tinha uma cadeira de péssima ergonomia, uma mesinha, um notebook simples, acesso à internet e um sonho. E ali comigo, desde o princípio, estavam Deus e minha família, em especial minha mãe Edna e meu pai Elias, que sempre foram os primeiros a me apoiarem e acreditarem no meu potencial. Eu gostaria, portanto, de iniciar estendendo toda a minha gratidão a Deus e aos meus pais pelo constante apoio e inspiração. Ainda perdida no Módulo 1, tive o prazer de conhecer o Clayson Moura, que para além de orientador tornou-se um grande amigo. Muito obrigada por todas as oportunidades, por cada vez que me deu um voto de confiança, por cada vírgula corrigida, por cada prazo estendido. Você foi uma peça essencial para que os caminhos do mundo científico se abrissem para mim e eu sempre terei um lugar guardado no coração para ti. Também transbordo em gratidão pelo auxílio da Monatha Teófilo, da Lorraine Moura e da Alessandra Marques, pessoas que contribuíram em peso na realização deste trabalho e sem as quais nós não teríamos conseguido desenvolver o estudo. Agradeço também à minha dupla, Maria Eduarda, amiga fiel que desde o Módulo 2 me empresta o ouvido, têm paciência e aguenta meus surtos. Foram meses cansativos, mas juntas vencemos mais uma etapa do curso! Por fim, eu gostaria de agradecer a todos os meus amigos (os da faculdade, os do RPG e os da vida) e às divas pops (Lady Gaga, como representante principal) que me ajudaram a manter a sanidade ao longo do processo com conversas gostosas e músicas que energizam minha alma. Que a jornada depois daqui continue próspera, cheia de aprendizados e boas companhias! Que assim seja e assim será.

Por Maria Eduarda Pires Vaz:

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à Deus, por me conceder a oportunidade de seguir meus sonhos, e à minha família, que não mede esforços para tornar possível a minha caminhada. Agradeço imensamente também ao nosso orientador, o prof. Dr. Clayson, pela maravilhosa orientação e pelo apoio. Por fim, agradeço profundamente à minha dupla de TCC e amiga pessoal, Náscar Katerine, pelo companheirismo de sempre.

RESUMO

O Brasil concentra uma das maiores biodiversidades do planeta, com biomas que apresentam espécies vegetais com um vasto potencial medicinal a ser explorado. Meio ao Cerrado encontra-se o gênero *Eugenia*, cujos extratos das folhas são ricos em ácidos fenólicos e flavonoides, com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, hipoglicemiantes, anti-hipertensivas, antimutagênicas, anticancerígenas e antibacterianas citadas na literatura. O presente estudo analisou as atividades citotóxica e antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico bruto das folhas da *Eugenia involucrata* DC. (Pitanga-do-cerrado). Relativo à atividade citotóxica, constatou-se que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia involucrata* DC. apresenta efeito proliferativo em baixas doses (575 µg/mL) e citotóxico em doses elevadas (9200 µg/mL). O isolado clínico de orofaringe de *Staphylococcus aureus* mostrou-se sensível a todos os volumes testados, com halo de inibição máximo de 20 mm, enquanto o isolado de urina de *Proteus mirabilis* demonstrou-se sensível somente às graduações de 100 e 200 µL do extrato, com halo de inibição máximo de 17 mm. Os resultados do teste de microdiluição indicaram atividade inibitória fraca contra *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina, com CIM igual a 1000 µg/mL. Logo, a ausência de toxicidade e o potencial antimicrobiano observado corroboram estudos posteriores *in vitro* e *in vivo* a fim de viabilizar a exploração segura e racional do potencial medicinal da *Eugenia involucrata* DC.

Palavras-chave: cerrado, *Eugenia*, toxicidade, antimicrobianos, etnofarmacologia.

ABSTRACT

Brazil contains some of the greatest biodiversity on the planet, with biomes containing plant species with vast medicinal potential to be exploited. In the middle of the Cerrado is the genus *Eugenia*, whose leaf extracts are rich in phenolic acids and flavonoids, with antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycemic, antihypertensive, antimutagenic, anticancer and antibacterial properties cited in the literature. This study analyzed the *in vitro* cytotoxic and antimicrobial activities of the crude hydroalcoholic extract of the leaves of *Eugenia involucrata* DC. (Pitanga-do-cerrado). Regarding cytotoxic activity, it was found that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Eugenia involucrata* DC. has a proliferative effect at low doses (575 µg/mL) and a cytotoxic effect at high doses (9200 µg/mL). The clinical oropharyngeal isolate of *Staphylococcus aureus* was sensitive to all the volumes tested, with a maximum inhibition halo of 20 mm, while the urine isolate of *Proteus mirabilis* was sensitive only to 100 and 200 µL graduations of the extract, with a maximum inhibition halo of 17 mm. The results of the microdilution test indicated weak inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis, with a MIC equal to 1000 µg/mL. Therefore, the absence of toxicity and the antimicrobial potential observed corroborate further *in vitro* and *in vivo* studies in order to enable the safe and rational exploitation of the medicinal potential of *Eugenia involucrata* DC.

Keywords: Cerrado, *Eugenia*, toxicity, antimicrobial agents, ethnopharmacology.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, inúmeras sociedades utilizam as plantas no tratamento, cura e prevenção de doenças, sendo, portanto, uma prática milenar (DUTRA *et al.*, 2024). Um exemplo disso é o uso do ópio, derivado da papoula do ópio (*Papaver somniferum*), que data desde os tempos da Grécia Antiga (BROOK, BENNETT, DESAI, 2017). A *Papaver somniferum* é composta por mais de 30 alcaloides, com destaque para a morfina, largamente utilizada por seu potente efeito analgésico (JUNIOR *et al.*, 2005). Análogo a isso, cita-se o quimioterápico paclitaxel, um dos taxanos sintetizados por espécies do gênero *Taxus* (Teixo) com amplas propriedades anticancerígenas, sendo amplamente utilizado no tratamento de cânceres de pulmão, ovário e mama (SANTOYO-GARCIA *et al.*, 2023). Assim, fica claro que são múltiplas as espécies com compostos secundários de interesse à ciência.

Sob essa perspectiva, o gênero *Eugenia* comporta um terço das espécies integrantes da família Myrtaceae, com distribuição ampla nas Américas do Sul e Central. Na medicina tradicional, as folhas de espécies do gênero *Eugenia* são utilizadas em infusões e decocções para o tratamento de diarreia, verminoses, febre, gota, reumatismo, hemorroida, influenza, amigdalite, tosse, hipertensão e diabetes (SOUZA, A. *et al.*, 2018; ARAUJO *et al.*, 2020, 2021). Estudos *in vitro* e *in vivo* com extratos das folhas de plantas do gênero demonstraram propriedades antimutagênicas, anticancerígenas, antibacterianas, anti-*Helicobacter pylori*, hipolipemiantes, hipoglicemiantes e anti-hipertensivas (ARAUJO *et al.*, 2021; LIMA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2023; SOUZA *et al.*, 2018).

Isto posto, Justino *et al.* (2022) verificaram altas ações antioxidante e antiglicante no extrato etanólico das folhas de *Eugenia dysenterica* (cagaita), potencial vinculado às altas concentrações de polifenóis na espécie, como a quercetina e a catequina (THOMAZ *et al.*, 2018). Da mesma forma, os extratos das folhas da *Eugenia pyriformis* (Uvaia) são reportados na literatura como ricos em compostos fenólicos e, por consequência, com alta capacidade antioxidante (SILVA, G. *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2020).

Nesse contexto, em 2017 a Organização Mundial de Saúde (OMS) classificou como prioridade científica a pesquisa e desenvolvimento de novos antimicrobianos

contra patógenos multirresistentes de alto risco, oriundos do uso indiscriminado de agentes antibacterianos e responsáveis por milhões de mortes no mundo (OMS, 2017; POZZO *et al.*, 2011; PORFÍRIO *et al.*, 2009). Assim, os fitoterápicos surgem como uma fonte alternativa e complementar aos antimicrobianos comerciais, visto que múltiplos extratos vegetais apresentam princípios ativos antimicrobianos e possuem baixa toxicidade, além da alta disponibilidade de matéria-prima no Brasil (BATISTA *et al.*, 2024, CASTRO *et al.*, 2018). Entre os microrganismos priorizados, cita-se as cepas resistentes de *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus*, que lideram as estatísticas globais de óbitos por resistência bacteriana (CHAKKOUR *et al.*, 2024, DOUA *et al.*, 2023, MURRAY *et al.*, 2022, CHEUNG; BAE; OTTO, 2021).

Meio a isso, a *Eugenia involucrata* DC. ou “Pitanga-do-cerrado”, anteriormente nomeada de *Eugenia calycina* Cambess, é uma planta arbustiva endêmica do Cerrado, cujos arbustos atingem em média 1,5 m de altura e produzem frutos vermelhos comestíveis de setembro a dezembro (SILVA *et al.*, 2020, SOUZA *et al.*, 2014). Suas folhas são ricas em ácidos fenólicos e flavonoides, em especial ácido elágico, miricitrina e epicatequina galato (ARAUJO *et al.*, 2020). Segundo a literatura, a *Eugenia involucrata* DC. apresenta concentração de ácido elágico até três vezes maior do que a encontrada na framboesa preta e na amora, também conhecidas por seu alto potencial antioxidante (TEÓFILO *et al.*, 2022).

Ainda que o uso medicinal de plantas seja uma alternativa aos fármacos tradicionais, os fitoterápicos apresentam propriedades físico-químicas capazes de produzir efeitos tóxicos conforme concentração, dosagem, frequência e via de administração (SILVA, M. *et al.*, 2021). Dessa forma, a literatura científica carece de estudos que explorem a toxicidade, o perfil fitoquímico e as atividades biológicas da *Eugenia involucrata* DC. Conforme a ISO 10.993-5:2009 (ISO, 2009), a biocompatibilidade pressupõe que um material não cause danos ou efeitos adversos significativos ao organismo humano e deve, a princípio, ser testada *in vitro* com células de mamíferos. Considerando seu potencial farmacológico, o presente estudo visa avaliar as atividades citotóxica e antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico bruto das folhas da *Eugenia involucrata* DC. de modo prover base científica para estudos posteriores *in vivo* e ensaios clínicos para viabilizar a exploração segura e racional do potencial medicinal desta espécie.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção do material vegetal

As folhas da *Eugenia involucrata* DC. foram coletadas em Hidrolândia, Goiás (16°54'01,0''S, 49°15'32,5''W, 832 m). A espécie foi identificada pelo Prof. Dr. José Realino de Paula da Universidade Federal de Goiás (UFG) e a exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Goiás (UEG) sob o número 15366. Os estágios para o preparo do extrato hidroalcoólico ocorreram na UEG, Câmpus Anápolis.

2.2. Preparo do extrato

O material vegetal foi desidratado a 40°C, pulverizado em moinho de facas e armazenado ao abrigo de luz e umidade. A seguir, 50 g do pó vegetal foi intumescido em álcool 54% (p/p) por 24 h. Após transferência para um percolador, o sistema ficou em maceração por três dias e, em seguida, foi percolado em 750 mL de álcool 54% (p/p) durante cinco dias. A solução obtida sofreu concentração através de rotaevaporação a 40°C, 25 rpm e 80 bar.

2.3. Ensaio de citotoxicidade

Para avaliar a atividade citotóxica do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia involucrata* DC. em células RAW 264.7 foi realizado o ensaio colorimétrico do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolium]. A obtenção das células RAW 264.7 e a realização das etapas do estudo deu-se em colaboração com o Laboratório de Citocinase do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. O MTT é um sal tetrazólico amarelo que é reduzido por enzimas mitocondriais em células vivas, formando cristais de formazan insolúveis, de cor púrpura. Dessa forma, a quantidade de formazan gerado é proporcional ao número de células viáveis na cultura (MOSMANN, 1983).

Em microplacas de 96 poços foram adicionadas 5×10^5 células RAW 264.7 por poço contendo 200 μ L de meio RPMI-1640 suplementado (Sigma Chemical Co. St

Louis, MO, EUA). Após incubação de 24h em estufa de CO₂, seguiu-se a exposição das células às cinco soluções de diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Eugenia involucrata* DC. (9200, 4600, 2300, 1150 e 575 µg/mL). As amostras receberam 100 µL de solução e foram incubadas por 48h. O experimento ocorreu em triplicata e, além da exposição ao extrato, preparou-se poços-controle contendo apenas células e meio suplementado. Os poços contendo apenas meio foram considerados como branco.

Após a exposição, adicionou-se 100 µL de solução de MTT a 10% (5mg/mL) em PBS, sucedendo de um novo período de incubação de 2 horas ao abrigo de luz. A seguir, foram acrescentados 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) nas amostras, incluindo os poços controles e brancos. A absorbância foi mensurada em um espectrofotômetro leitor de placas de ELISA (Biolisa Reader, Bioclin, Belo Horizonte, MG) com filtro simples de 550 nm. As porcentagens de células viáveis em cada foram utilizados para o cálculo da Concentração Inibitória Média (IC₅₀), que consiste na concentração necessária para inibir 50% das células viáveis em cultura.

2.4. Atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana ocorreu por teste de difusão em ágar, em triplicata. Os inóculos de *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* foram isolados de amostras de urina, enquanto os de *Staphylococcus aureus* foram obtidos a partir de secreções da orofaringe de pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás).

Os microrganismos gram-negativos (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*) e gram-positivo (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus spp.*) foram, respectivamente, repicados em ágar MacConkey (NewProv) e ágar Manitol-sal (Biocen do Brasil) e incubados em estufa bacteriológica a 36°C ± 1°C durante 24h. A suspensão bacteriana foi preparada com turvação equivalente a 0,5 na escala de MacFarland (10⁸ UFC/mL) em solução salina estéril de NaCl a 0,85%.

Em 1 mL de solução salina de NaCl a 0,85%, foi diluído 0,0459 g do material vegetal em pó das folhas da *Eugenia involucrata*. Com o auxílio de swabs estéreis, a suspensão bacteriana foi semeada em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton. Em cada placa foram confeccionados três poços de 9 mm para deposição de 50 µL,

100 µL e 200 µL do extrato. Sistemas de multidisco com antibióticos comerciais foram utilizados como controles positivos. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica à temperatura de 36°C ± 1°C por 24 h e os resultados interpretados conforme parâmetros do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2016).

2.5. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A técnica de microdiluição em caldo foi utilizada para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), a menor concentração de extrato capaz de inibir por completo o crescimento bacteriano, em triplicata, conforme normas do CLSI. Foram utilizadas cepas de *Escherichia coli* ATCC 25312, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27855, além de inóculos de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.* e *Escherichia coli* isolados de mastite bovina pelo Laboratório de Microbiologia da UEG.

Os inóculos foram reativados em ágar Müller Hinton a 37 °C durante 24h. A suspensão bacteriana foi preparada em solução salina de NaCl 0,85%, com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland e adicionada em microplacas de 96 poços. O extrato foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% e diluído em caldo Müller Hinton em tubos estéreis com concentrações decrescentes obtidas por diluição seriada (2000, 1000, 500, 250, 125, 62,5 e 31,2 µg/mL). Como controles negativo e positivo, utilizou-se, respectivamente, DMSO 5% e cloranfenicol nas concentrações de 64, 32, 16, 8, 4 e 2 µg/mL. Além disso, realizou-se teste de hipoclorito de sódio a 6% como controle positivo, com adição de 50 µl da solução aos poços.

As microplacas foram tampadas e incubadas a 37°C por 24h. Adicionou-se 25 µL de resazurina (10%) (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona 10-óxido) em cada poço uma hora antes do término da incubação. O surgimento de cor azul e rósea avermelhada foram consideradas, respectivamente, indicativo de inibição e ausência de inibição do crescimento bacteriano. A fim de confirmar a morte ou inatividade das bactérias, o conteúdo dos poços que apresentaram cor azul foi semeado em ágar Müller Hinton e incubado a 37 °C. Após 24 horas, o crescimento de colônias indicou presença de bactérias ativas.

2.6. Determinação do índice de seletividade (IS)

Para determinação do índice de seletividade (IS) do extrato hidroalcólico, foi estabelecida a relação entre a citotoxicidade do extrato em macrófagos RAW 264.7 e sua atividade antimicrobiana *in vitro*. O IS foi obtido pela razão do IC50 do extrato e a CIM de cada espécie bacteriana (CHAVASCO *et al.*, 2014) (Equação 1).

Equação 1:

$$IS = \frac{IC50}{CIM}$$

2.7. Análise estatística

O software GraphPad Prism 10 foi utilizado para os cálculos do percentual de células viáveis, do IC50 e do desvio padrão, e para a elaboração dos gráficos. O cálculo de células viáveis (%), que determina o percentual de viabilidade das células RAW 264.7 após exposição ao extrato, deu-se através da seguinte fórmula, onde a densidade óptica (DO) corresponde à média das leituras obtidas em espectrofotômetro (Equação 2).

Equação 2:

$$Variabilidade\ celular\ (\%) = \frac{DO\ tratados - DO\ branco}{DO\ controles - DO\ branco} \times 100$$

3. RESULTADOS

3.1. Atividade citotóxica

Investigou-se o percentual de viabilidade celular na cultura de células RAW 264.7 quando expostas a distintas concentrações do extrato hidroalcoólico bruto das folhas da *Eugenia involucrata* DC. Após 48h de incubação, observou-se um padrão de resposta dose-dependente nos macrófagos. Nas concentrações de 9200, 4600, 2300, 1150 e 575 µg/mL, respectivamente, as culturas de células RAW 264.7

apresentaram cerca de 14%, 29%, 25%, 63% e 146% de células viáveis pós-tratamento (Figura 1).

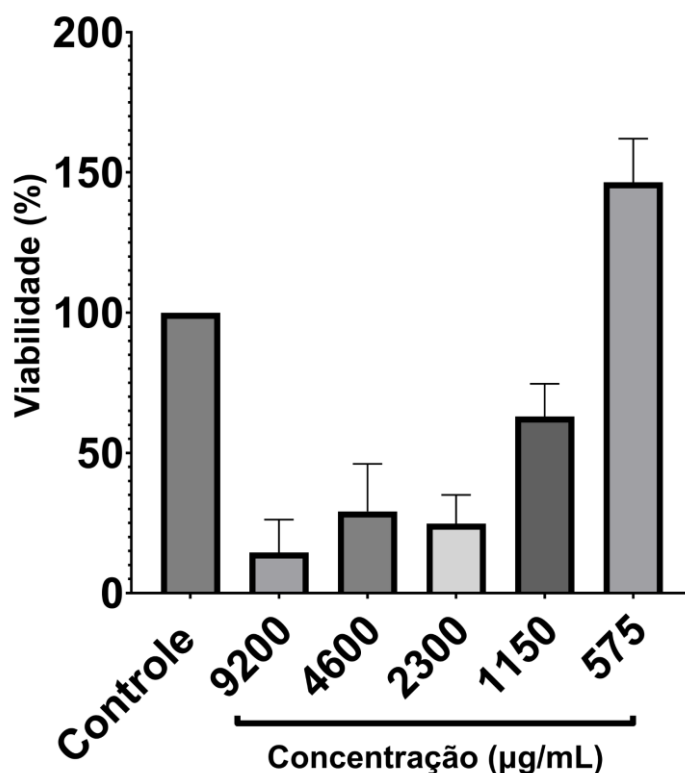


Figura 1. Viabilidade celular (%) de células RAW 264.7 pós-tratamento de 48h com extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia involucrata* DC (as barras representam o desvio-padrão da média).

Constatou-se um aumento da viabilidade celular na concentração de 575 µg/mL, a menor testada, com percentual de $146,51 \pm 15,51\%$ macrófagos viáveis em relação ao controle. Em contrapartida, as concentrações ≥ 2300 µg/mL resultaram em significativa diminuição da viabilidade celular (Tabela 1). Tais resultados sugerem um potencial bifásico do extrato, com efeito proliferativo em baixas doses e citotóxico em doses elevadas. O valor de IC₅₀, isto é, a menor concentração necessária para inibir 50% das células viáveis em cultura, foi estimada em $1468,51 \pm 143,34$ µg/mL.

Tabela 1. Viabilidade celular (%) e desvio-padrão (DP) pós-tratamento de 48h de macrófagos RAW 264.7 com extrato hidroalcoólico das folhas de *E. involucrata* DC.

Concentração do extrato (µg/mL)	Viabilidade celular (%) $\pm$ DP
---------------------------------	----------------------------------

Controle	100
575	146,51 ± 15,51
1150	62,95 ± 11,69
2300	24,79 ± 10,22
4600	29,14 ± 16,93
9200	14,47 ± 11,75

3.2. Atividade antimicrobiana

Investigou-se a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico das folhas da *E. involucrata* DC. através do teste de difusão em ágar. Para o extrato vegetal, o critério de sensibilidade deu-se pela observação do desenvolvimento de halo de inibição. Para os controles, o critério interpretativo deu-se pela comparação entre a medida do diâmetro do halo de inibição e o padrão internacional estabelecido pelo CLSI. Os resultados do ensaio de suscetibilidade estão sumarizados na Tabela 2. Entre os isolados clínicos avaliados, as espécies *Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis* apresentaram sensibilidade ao extrato testado. O isolado de *S. aureus* mostrou-se sensível a todos os volumes do extrato, com halo de inibição máximo de 20 mm. Por outro lado, *P. mirabilis* demonstrou-se sensível somente às graduações de 100 e 200 µL do extrato das folhas de *E. involucrata*, com halo de inibição máximo de 17 mm.

Tabela 2. Suscetibilidade das espécies bacterianas ao extrato das folhas de *Eugenia involucrata* DC. e halos de inibição (mm).

Volume do extrato	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
50 µL	(S) 14	R	R
100 µL	(S) 17	(S) 10	R

200 µL	(S) 20	(S) 17	R
--------	--------	--------	---

R=resistente; (S)=sensível.

A Tabela 3 descreve o perfil de resistência dos microrganismos a antibióticos comerciais. Apesar da bactéria *S. aureus* ter apresentado o maior perfil de resistência dentre os isolados clínicos no antibiograma, foi a espécie bacteriana com maior sensibilidade ao extrato vegetal, o que fundamenta a investigação do potencial antimicrobiano do extrato das folhas de *E. involucrata*.

Tabela 3. Suscetibilidade das espécies bacterianas aos antibióticos comerciais

Microrganismos	Resistente	Sensível
<i>Staphylococcus aureus</i>	AMP, AZI, ERI, OXA, PEN	CFO, CIP, CLI, CLO, GEN, LNZ, RIF, SUT, TET, VAN
<i>Proteus mirabilis</i>	TET ^(a)	AMC, AMI, AMP, ATM, CAZ, CFO, CFZ, CIP, CLO, CPM, CRO, GEN, MPM, SUT
<i>Escherichia coli</i>	AMC, AMP, CLO	AMI, ATM, CAZ, CFO, CFZ, CIP, CPM, CRO, GEN, MPM, SUT, TET

AMC=amoxicilina 30 µg, AMI=amicacina 30 µg, AMP=ampicilina 10 µg, ATM=aztreonam 30 µg, AZI=azitromicina 15 µg, CAZ=ceftazidima 30 µg, CFO=cefoxitina 30 µg, CFZ=cefazolina 30 µg, CIP=ciprofloxacina 5 µg, CLI=clindamicina 2 µg, CLO=cloranfenicol 30 µg, CPM=cefepime 30 µg, CRO=ceftriaxona 30 µg, ERI=eritromicina 15 µg, GEN=gentamicina 10 µg, LNZ=linezolida 30 µg, MPM=meropenem 10 µg, OXA=oxacilina 1 µg, PEN=penicilina 10 µg, RIF=rifampicina 5 µg, SUT=sulfazotrim 25 µg, TET=tetraciclina 30 µg, VAN=vancomicina 30 µg.

^(a)Resistência intrínseca.

3.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Índice de Seletividade

Os resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e do Índice de Seletividade (IS) do extrato para as espécies testadas estão representados na Tabela 4. Segundo Holetz *et al.* (2002), para extratos de plantas pode-se considerar: boa atividade antimicrobiana para $CIM \leq 100 \mu\text{g/ml}$; atividade moderada para CIM maior que 100 e $\leq 500 \mu\text{g/ml}$; atividade fraca para CIM maior que 500 e $\leq 1000 \mu\text{g/ml}$; e extrato inativo para CIM maior que 1000 $\mu\text{g/ml}$. Desta forma, observou-se que o extrato apresentou atividade inibitória fraca contra a cepa de *Staphylococcus aureus* isolada de mastite bovina. O extrato mostrou-se inativo aos demais inóculos.

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Índice de Seletividade (IS) do extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Eugenia involucrata* DC.

Inóculos	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	Atividade antimicrobiana	IS
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25312	2000	Inativa	0,73
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27855	2000	Inativa	0,73
<i>Escherichia coli</i> Mastite	2000	Inativa	0,73
<i>Staphylococcus aureus</i> Mastite	1000	Fraca	1,47
<i>Streptococcus spp.</i> Mastite	2000	Inativa	0,73

4. DISCUSSÃO

4.1. Atividade citotóxica

A análise da viabilidade celular por meio do ensaio de MTT permitiu avaliar o efeito citotóxico do extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Eugenia involucrata* DC. sobre a linhagem de macrófagos murinos RAW 264.7. Observou-se um comportamento dose-dependente, com efeito antiproliferativo em altas doses e efeito

proliferativo em baixas doses. Concentrações $\geq 2300 \mu\text{g/mL}$ resultaram em significativa diminuição da viabilidade celular, enquanto o tratamento com o extrato a $575 \mu\text{g/mL}$ promoveu um aumento expressivo na proliferação celular. Esse perfil de resposta pode estar associado à presença de compostos com propriedades antioxidantes e imunomoduladoras nas folhas da espécie, como o ácido elágico, a miricitrina e a epicatequina galato (ARAUJO *et al.*, 2020)

Nesse contexto, o valor de IC₅₀ estimado foi de $1468,51 \pm 143,34 \mu\text{g/mL}$. Segundo o Instituto Nacional de Câncer dos Estados Unidos da América: extratos vegetais brutos com valores de IC₅₀ $\leq 20 \mu\text{g/mL}$ são considerados altamente citotóxicos; valores maiores que 20 e $\leq 200 \mu\text{g/mL}$ indicam citotoxicidade moderada; valores maiores que 200 e $\leq 500 \mu\text{g/mL}$ baixa citotoxicidade; e acima de $500 \mu\text{g/mL}$, ausência de atividade citotóxica significativa (ANYWAR *et al.*, 2022). Portanto, conforme o IC₅₀ averiguado, o extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia involucrata* DC. caracteriza-se como atóxico.

Apesar de a literatura científica carecer de dados quanto à citotoxicidade da espécie em foco, há múltiplos estudos sobre o efeito citotóxico de outras espécies do gênero *Eugenia*. Isto posto, Correa-Royero *et al.* (2010) investigaram o efeito do extrato hidroetanólico das folhas de *Eugenia uniflora*, coletadas na Colômbia, em células Vero ATCC CCL-81. Após exposição de 48 h ao extrato, os autores identificaram um IC₅₀ de $117,4 \pm 11,9 \mu\text{g/mL}$, sugerindo citotoxicidade moderada. Análogo a isso, Santos *et al.* (2012) observaram 8% de toxicidade celular em macrófagos murinos J774 expostos ao extrato das folhas de *E. uniflora*, coletadas no nordeste brasileiro. Após 24 h de tratamento, estimou-se um IC₅₀ de $62,76 \mu\text{g/mL}$, o que indicou uma citotoxicidade moderada na linhagem celular em análise.

Sob essa perspectiva, Famuyide *et al.* (2019a) testaram a atividade citotóxica de extratos acetônicos brutos de espécies africanas do gênero *Eugenia* em fibroblastos Vero ATCC CCL-81. A espécie de maior efeito tóxico foi a *Eugenia natalitia* com IC₅₀ de $38 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$, apresentando, portanto, citotoxicidade moderada. Os extratos das espécies *Eugenia erythrophylla*, *Eugenia woodii*, *Eugenia untamvunensis* e *Eugenia zeyheri* classificaram-se como pouco tóxicos ($200 < \text{IC}_{50} \leq 500 \mu\text{g/mL}$) ou atóxicos ($\text{IC}_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$), sendo a espécie *Eugenia zeyheri* a que apresentou o maior IC₅₀, estimado em $1140 \pm 0,17 \mu\text{g/mL}$.

Logo, o potencial citotóxico é influenciado por múltiplas variáveis, como o local de coleta e a metodologia de preparo do extrato. Por consequência, em vista do perfil atóxico da espécie em estudo, bem como sua vasta aplicação na medicina popular, tais resultados corroboram estudos posteriores quanto aos potenciais biológicos e à composição fitoquímica do extrato das folhas da *Eugenia involucrata* DC.

4.2. Atividade antimicrobiana

As espécies do gênero *Eugenia* estão distribuídas por todo o território brasileiro, somando aproximadamente 400 variedades. Tal gênero se destaca no Brasil tanto por seu amplo potencial econômico quanto pelo farmacológico, especialmente relacionado ao tratamento de infecções bacterianas (ZANUSSO *et al.*, 2023). O teste de difusão em ágar realizado neste estudo demonstrou que *S. aureus* se apresentou sensível a todos os volumes do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia involucrata* DC, com halo de inibição máximo de 20mm, enquanto *P. mirabilis* apresentou sensibilidade apenas às graduações de 100 e 200 µL, cujo halo de inibição atingiu até 17mm. A *E. coli* se mostrou resistente a todas as graduações do extrato testadas.

Estudos anteriores observaram que os halos de inibição para *S. aureus* após tratamento com os extratos etanólico e metanólico das folhas de *E. pyriformis* Cambess e *E. uniflora* L. foram, respectivamente, 12 mm e entre 8-11 mm (CHAVASCO *et al.* 2014; SOUZA *et al.* 2004). Também foi demonstrado que extrato etanólico das folhas da *Eugenia jambolana* inibiram o crescimento de cepas de *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), com halos de inibição que variaram entre 14mm e 18mm, enquanto o extrato etanólico das folhas da *Eugenia uniflora* não apresentou atividade antibacteriana contra tais cepas (COUTINHO *et al.*, 2010). Extratos de plantas de outros gêneros demonstraram menor atividade antimicrobiana contra cepas de *S. aureus*, como é o caso da *Myrciaria cauliflora*, cujo extrato das cascas das frutas apresentou halos de inibição que variaram de 2mm a 10mm (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Outro exemplo do potencial antimicrobiano das plantas do gênero *Eugenia* se dá pelos extratos da *Eugenia aromatica*, que apresentaram halos de inibição que variaram de 15 a 23mm contra cepas de *Klebsiella pneumoniae*, além de variações

de 14mm a 21mm contra espécies de *Streptococcus* (MOUNIKA *et al.*, 2020). Com relação às cepas de *E. coli*, estudos mostraram que extratos etanólicos das folhas das espécies *E. uniflora* L. e *E. pyriformis* apresentaram halos de inibição entre 11 e 16 mm (BERNARDO *et al.*, 2015; CHAVASCO *et al.*, 2014; FIÚZA *et al.*, 2008). Por outro lado, o extrato metanólico bruto das folhas e os extratos das cascas da *E. uniflora* L. se mostraram ineficazes contra cepas de bactérias desta espécie, que demonstraram resistência (BITTENCOURT *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2004).

Portanto, conclui-se que o extrato das folhas de *E. involucrata* possui potencial antimicrobiano para os isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Proteus mirabilis*, cabendo estudos *in vitro* e *in vivo* posteriores com diferentes concentrações, volumes e cepas.

4.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Índice de Seletividade

Constatada a suscetibilidade dos isolados clínicos ao extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Eugenia involucrata* DC., foi avaliada sua atividade antimicrobiana quantitativa através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de cepas bacterianas de relevância clínica. Os resultados indicaram que o extrato apresentou atividade inibitória fraca apenas contra *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina, com CIM igual a 1000 µg/mL. Para as demais cepas testadas, incluindo *Escherichia coli* (ATCC e isolado clínico), *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus spp.*, a CIM foi de 2000 µg/mL, sendo, portanto, classificada como inativa conforme os critérios propostos por Holetz *et al.* (2002), que estabelecem como limiar para atividade significativa a $CIM \leq 1000 \mu\text{g/mL}$.

Estes dados corroboram parcialmente os achados de Ferreira *et al.* (2014), que também reportaram CIM de 2000 µg/mL para o extrato hidroetanólico de *E. involucrata* DC. frente a cepas de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, o que sugeriu um padrão de baixa eficácia antimicrobiana pelos compostos das folhas da espécie. Por outro lado, estudos realizados por Toledo *et al.* (2023) apontaram valores mais elevados de CIM do extrato hidroalcoólico das folhas de *E. involucrata* DC. para as cepas *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, ambas com CIM de 12,5 mg/mL. Os autores também observaram baixo efeito antimicrobiano frente outras bactérias gram-negativas, como *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*, reforçando a hipótese de

que o extrato possui ação limitada sobre microrganismos gram-negativos. Tais discrepâncias podem ser atribuídas às variações fitoquímicas do extrato conforme a metodologia de extração, tempo de incubação, parte da planta utilizada e origem geográfica do material botânico.

Há compostos presentes em plantas nativas capazes de retardar o crescimento de bactérias e fungos, de modo que seu uso associado a antibióticos convencionais pode melhorar ainda mais sua eficácia (SOUZA *et al.*, 2018). A *E. uniflora*, por exemplo, apresenta um efeito sinérgico quando associada à amicacina, gentamicina, neomicina e tobramicina, uma vez que nessas condições há redução em sua CIM contra cepas de *Staphylococcus aureus* (COUTINHO *et al.*, 2010).

Comparativamente, outras espécies do gênero *Eugenia* demonstraram maior potencial antimicrobiano. Estudos com extratos acetônicos das folhas de *E. erythrophylla*, *E. natalitia*, *E. woodii* e *E. zeyheri* revelaram CIMs significativamente inferiores, variando de 80 a 310 µg/mL contra *Staphylococcus aureus* e *P. aeruginosa* (FAMUYIDE *et al.*, 2019a), configurando atividade antimicrobiana forte a moderada. Outro exemplo do potencial antimicrobiano do gênero *Eugenia* se dá pelo extrato etanólico das folhas de *E. pyriformis* Cambess, que expressa um bom potencial de inibição para a cepa *P. mirabilis* ATCC 25922, com CIM de 50 µg/mL (CHAVASCO *et al.*, 2014). Estes dados indicam que o perfil bioativo de espécies do mesmo gênero pode variar substancialmente, e destacam a importância da triagem fitoquímica e da padronização metodológica no estudo de novos antimicrobianos vegetais.

No que diz respeito à segurança terapêutica do extrato, é fundamental considerar o Índice de Seletividade (IS), que é calculado pela razão entre a concentração inibitória de 50% da viabilidade celular (IC₅₀) e a concentração inibitória mínima (CIM). Um valor de $IS \geq 1$ indica que o extrato é mais tóxico para a bactéria do que para as células de mamíferos, sendo, portanto, desejável para o desenvolvimento de fitoterápicos seguros (FAMUYIDE *et al.*, 2019a). No presente estudo, apenas o extrato testado contra *Staphylococcus aureus* isolado de mastite bovina apresentou IS superior a 1 ($IS = 1,47$), sendo os demais valores iguais a 0,73, o que sugere risco de citotoxicidade às células de mamíferos testadas em concentrações próximas às necessárias para atividade antimicrobiana.

Nesse contexto, o IS de 1,47 frente a *S. aureus* pode indicar uma janela terapêutica promissora, embora limitada, sobretudo quando comparado aos índices de seletividade mais elevados encontrados em outras espécies do gênero *Eugenia*. Famuyide *et al.* (2019a) relataram índices de seletividade médios de 7,90 e 8,27 para os extratos de *E. untamvunensis* e *E. zeyheri*, reforçando que, além da potência antimicrobiana, a seletividade deve ser um critério determinante na avaliação da viabilidade clínica de um extrato vegetal. Sob essa perspectiva, a aplicação terapêutica do extrato de *E. involucrata* DC., ao menos na forma bruta e na dosagem avaliada, ainda se mostra restrita, embora mereça aprofundamento em estudos de fracionamento e sinergismo com antibióticos convencionais.

Com relação aos óleos essenciais, o óleo microencapsulado da *E. caryophyllata* apresentou uma MIC de 90µl/ml contra cepas ATCC 43300 de *S. aureus*, apresentando portanto uma boa atividade antimicrobiana (CARVALHO *et al.*, 2025). Já o óleo essencial proveniente das folhas da *E. brasiliensis* possui atividade inibitória satisfatória contra cepas de *S. aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (MAGINA *et al.*, 2012).

Outro exemplo da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das plantas do gênero *Eugenia* se dá através de nanoemulsões preparadas a partir do óleo da *E. uniflora*, que apresenta efeitos inibitórios suficientes contra bactérias Gram-positivas, como *Staphylococcus aureus*, Gram-negativas, como *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii*, além de cepas de *Candida albicans* e *Candida Krusei* (SANTOS *et al.*, 2025). Contudo, deve-se destacar que análises da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais são dificultadas por sua complexidade química, volatilidade e insolubilidade, de modo que fatores como a densidade do inóculo, a técnica utilizada e o emulsificador adotado devem ser levados em consideração (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Dentre as espécies do gênero *Eugenia*, a *E. uniflora* parece ser a mais estudada, enquanto que com relação aos extratos, destaca-se que os mais explorados pelas pesquisas são o hidroetanólico, o metanólico e o aquoso (ZANUSSO *et al.*, 2023). Isso demonstra que são necessários estudos que explorem outras espécies do gênero, como a *E. calycina*, por exemplo, e que englobem a utilização de outros extratos, a exemplo do hidroalcoólico.

Por fim, é válido destacar que os resultados obtidos podem ter implicações não apenas para a medicina humana, mas também para a medicina veterinária, especialmente no contexto de mastites bovinas. Barbosa *et al.* (2025) defendem que bioinsumos de origem vegetal, como os extratos de *Eugenia dysenterica*, têm potencial para substituir ou complementar antibióticos no tratamento de infecções em animais de produção, contribuindo para a redução da resistência antimicrobiana. Ferreira *et al.* (2023) observaram a redução da CIM de bactérias multirresistentes de origem clínica humana entre 51,2% a 100% quando expostas ao tratamento *in vitro* simultâneo com antibióticos comerciais e extratos vegetais. Portanto, mesmo extratos com atividade moderada ou fraca, como o de *E. involucrata* DC., podem ser úteis, desde que aplicados em estratégias terapêuticas combinadas ou em formulações tópicas com segurança validada.

Faz-se necessário destacar que este estudo *in vitro* apresenta limitações, como a quantidade e a origem veterinária de algumas cepas bacterianas utilizadas, além da investigação do potencial antimicrobiano de apenas uma concentração do extrato. Destaca-se a necessidade de utilização de cepas padronizadas (ATCC), bem como cepas de origem clínica humana, além da análise de outras concentrações do extrato, para que seu potencial antimicrobiano seja largamente explorado.

Logo, ainda que tenha sido observada atividade antimicrobiana promissora para cepas de *Staphylococcus aureus*, são necessários estudos do perfil fitoquímico, a fim de identificar os metabólitos secundários responsáveis por este potencial biológico e explorar aqueles com maior potencial antimicrobiano e menor toxicidade celular, o que pode ser feito a partir do fracionamento do extrato. A investigação de atividades sinérgicas entre o extrato vegetal em doses comprovadas seguras e antibióticos comerciais *in vitro* e *in vivo* pode contribuir para sua aplicação na medicina formal. Desse modo, estaria-se viabilizando a exploração consciente do potencial antimicrobiano da espécie por meio do resgate, fortalecimento e aprimoramento de conhecimentos populares cultivados na medicina tradicional.

5. CONCLUSÃO

Em suma, o extrato das folhas da *Eugenia involucrata* DC. demonstrou ausência de toxicidade e potencial proliferativo em baixas concentrações. Ademais, foi observada

atividade inibitória fraca contra *Staphylococcus aureus* e Índice de Seletividade seguro para células de mamíferos. Logo, conclui-se que o extrato apresentou perfil promissor e deve ser melhor investigado quanto ao seu perfil fitoquímico e atividade antimicrobiana.

6. REFERÊNCIAS

ANYWAR, G. U.; KAKUDIDI, E.; ORYEM-ORIGA, H.; SCHUBERT, A., JASSOY, C. Cytotoxicity of Medicinal Plant Species Used by Traditional Healers in Treating People Suffering From HIV/AIDS in Uganda. *Front Toxicol.*, vol. 4, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.832780>.

ARAUJO, N. M. P.; ARRUDA, S. A.; FARIAS, D. P.; MOLINA, G.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Plants from the genus *Eugenia* as promising therapeutic agents for the management of diabetes mellitus: A review. *Food Research International*, v. 142, abr. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110182>.

ARAUJO, N. M. P.; ARRUDA, S. A.; SANTOS, F. N.; MORAIS, D. R.; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. LC-MS/MS screening and identification of bioactive compounds in leaves, pulp and seed from *Eugenia calycina* Cambess. *Food Research International*, v. 137, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109556>.

BARBOSA, F. G.; SILVA, G. F.; OLIVEIRA, V. L. P. de; KUBIJAN, L. A. C.; COSTA, L. G.; MELO, A. M. de; TEÓFILO, M. N. G.; MORGADO, C. M. A.; CAMPOS, A. J. de; PEIXOTO, J. de C.; BORGES, L. L.; SILVA NETO, C. de M.; SANTANA, E. S.; PAULA, J. A. M. de. Bioinputs from *Eugenia dysenterica* DC. (*Myrtaceae*): Optimization of ultrasound-assisted extraction and assessment of antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities. *Molecules*, v. 30, n. 5, p. 1115, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules30051115>.

BATISTA, E. E. B.; SILVA, M. A. S.; TORRES, J. L. M.; MARIZ, W. S.; REGO, V. B. J.; LEITÃO, A. F. D.; OLIVEIRA FILHO, A. A.; RÊGO, V. G. de S. Avaliação da atividade antibacteriana e antiaderente do óleo essencial de *Lavandula hybrida* grosso contra *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro*, v. 1, n. 1, jan. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.61164/rnm.v1i1.2084>.

BERNARDO, T. H. L.; VERÍSSIMO, R. C. S. S.; ALVINO, V.; ARAUJO, M. G. S.; SANTOS, R. F. E. P.; VIANA, M. D. M.; BASTOS, M. L. A.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S.; ARAÚJO-JÚNIOR, J. X. Antimicrobial analysis of an antiseptic made from ethanol crude extracts of *P. granatum* and *E. uniflora* in Wistar rats against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *The Scientific World Journal*, v. 2015, jun. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/751791>.

BITTENCOURT, A. H. C.; MACHADO, J. S.; SILVA, M. G. da; COSENZA, B. A. P. Evaluation preliminary phytochemistry and antimicrobial activity of extracts in *Eugenia uniflora* L. on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 13, p. e329101320579, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i13.20579>.

BROOK, K.; BENNETT, J.; DESAI, S. P. The chemical history of morphine: an 8000-year journey, from resin to de-novo synthesis. *Journal of Anesthesia History*, v. 3, n. 2, p. 50–55, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.janh.2017.02.001>.

CARVALHO, C. M. C.; SILVA, A. C.; OLIVEIRA, J. F.; SANTOS, M. R.; LIMA, E. N.; PEREIRA, L. S.; COSTA, R. A.; ALMEIDA, F. J. Antimicrobial and antibiofilm action of *Eugenia caryophyllata* essential oil microencapsulated with whey protein isolate. *IOSR Journal of Humanities and Social Science (IOSR-JHSS)*, v. 30, n. 1, série 5, p. 35–43, jan. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.9790/0837-3001053543>.

CASTRO, G. A. C.; OLIVEIRA, M. F.; SILVA, R. T.; SOUSA, L. M.; PEREIRA, J. A.; MENDES, F. R.; COSTA, M. C.; ALMEIDA, D. S. Avaliação da eficiência antibacteriana de extrato de *Lentinula edodes* e da solução aquosa do látex de *Euphorbia tirucalli* frente à bactéria *Streptococcus agalactiae*: estudos preliminares. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 16, n. 3, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v16i3.5610>.

CHAKKOUR, M.; HAMMOUD, Z.; FARHAT, S.; EL ROZ, A.; EZZEDDINE, Z.; GHSSEIN, G. Overview of *Proteus mirabilis* pathogenicity and virulence. Insights into the role of metals. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, abr. 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1383618>.

CHAVASCO, J. M.; PRADO E FELIPHE, B. H. M.; CERDEIRA, C. D.; LEANDRO, F. D.; COELHO, L. F. L.; SILVA, J. J. da; CHAVASCO, J. K.; DIAS, A. L. T. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from southern Minas Gerais Cerrado. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 56, n. 1, p. 13–20, jan./fev. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000100002>.

CHEUNG, G. Y. C.; BAE, J. S.; OTTO, M. Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, v. 12, n. 1, p. 547–569, jan. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. M100S: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. Pennsylvania, 2016. 256 p.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute. M7-A9: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 9th ed. Pennsylvania, 2012. 88 p.

CORREA-ROYERO, J.; TANGARIFE, V.; DURÁN, C.; STASHENKO, E. E.; MESA-ARANGO, A. C. *In vitro* antifungal activity and cytotoxic effect of essential oils and extracts of medicinal and aromatic plants against *Candida krusei* and *Aspergillus fumigatus*. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, vol, 20, n. 5, 734-741. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010005000021>.

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Antistaphylococcal activity of *Eugenia jambolana* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Properties*, v. 13, n. 6, p. 1405–1410, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10942910903108488>.

DOUA, J.; SARNECKI, M.; GEURTSSEN, J.; RODRIGUEZ-BAÑO, J.; CORNELLY, O. A.; GO, O.; GOMILA-GRANGE, A.; KIRBY, A.; HERMANS, P.; GORI, A.; ZUCCARO, V.; GRAVENSTEIN, S.; BONTEN, M.; POOLMAN, J. Epidemiology, clinical features, and antimicrobial resistance of invasive *Escherichia coli* disease in patients admitted in tertiary care hospitals. *Open Forum Infectious Diseases*, v. 10, n. 2, feb. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofad026>.

DUTRA, A. S. S.; DUTRA, R. F. F.; CRUZ, B. I. L.; OLIVEIRA, K.; SOUZA, L. A.; MARQUES, F. D. M.; PARENTE, E. P.; MORAIS, D. F.; FIGUEIREDO, C. M.; RODRIGUES, P. D.; RAMPAZZO, J. A.; CALIXTO, T. B. M. Desafios e inovações na terapêutica de doenças negligenciadas: o papel dos fitoterápicos na busca por soluções eficientes. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, v. 6, n. 2, p. 1967-1994, fev. 2024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36557/2674-8169.2024v6n2p1967-1994>.

FAMUYIDE, I. M.; ARO, A. O.; FASINA, F. O.; ELOFF, J. N.; MCGAW, L. J. Antibacterial and antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated South African *Eugenia* and *Syzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v. 19, 141, 2019a. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2547-z>.

FAMUYIDE, I. M.; ARO, A. O.; FASINA, F. O.; ELOFF, J. N.; MCGAW, L. J. Antibacterial activity and mode of action of acetone crude leaf extracts of under-investigated *Syzygium* and *Eugenia* (Myrtaceae) species on multidrug resistant porcine diarrhoeagenic *Escherichia coli*. *BMC Veterinary Research*, v. 15, 162, 2019b. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1914-9>.

FERREIRA, F. P. S.; SILVA, M. F. G. F.; SILVA, D. M.; SILVA, M. A. S.; SILVA, M. A. S.; SILVA, M. A. S. *Eugenia calycina* Cambess extracts and their fractions: Their antimicrobial activity and the identification of major polar compounds using electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 99, p. 89-96, oct. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.07.003>.

FERREIRA, M. R. A.; SILVA, D. M.; SILVA, M. A. S.; SILVA, M. A. S.; SILVA, M. A. S. *Eugenia uniflora*: a promising natural alternative against multidrug-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Biology*, v. 83, e274084, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.274084>.

FIÚZA, T. S.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T.; PAULA, J. R.; TRESVENZOL, L. M. F.; PIMENTA, F. C. Evaluation of antimicrobial activity of the crude ethanol extract of *Eugenia uniflora* L. leaves. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n. 3, p. 245-250, 2008. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/468>.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 7, p. 1027–1031, oct. 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. Geneva: ISO, 2009.

JUSTINO, A. B.; PEREIRA, M. N.; VILELA, D. D.; ESPÍNDOLA, F. S.; SILVA, R. A.; OLIVEIRA, R. J. Flavonoids and proanthocyanidins-rich fractions from *Eugenia dysenterica* fruits and leaves inhibit the formation of advanced glycation end-products and the activities of α -amylase and α -glucosidase. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 285, mar. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114902>.

LIMA, A. B.; SILVA, A. C. M.; DUTRA, A. S. S.; OLIVEIRA, M. F. Hypolipemiant and antioxidant effects of *Eugenia brasiliensis* in an animal model of coconut oil-induced hypertriglyceridemia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 96, p. 642–649, dec. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.047>.

MAGINA, M. D. A.; DALMARCO, E. M.; DALMARCO, J. B.; COLLA, G.; PIZZOLATTI, M. G.; BRIGHENTE, I. M. C. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. *Química Nova*, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 1184–1188, maio 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000600022>.

MOUNIKA, A.; SUSHMA, M.; SIDDE, L.; MALATHI, S.; RAJANI, K. In vitro evaluation of antimicrobial activity of clove buds (*Eugenia aromatica*). *International Journal of Indigenous Herbs and Drugs*, [S.l.], p. 25–33, 27 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.46956/ijihd.vi.95>.

MURRAY, C. J. L.; NAGHAVI, M.; IKUTA, K.; SHARARA, F.; SWETSCHINSKI, L.; ROBLES AGUILAR, G.; GRAY, A.; HAN, C.; BISIGNANO, C.; RAO, P.; WOOL, E.; JOHNSON, S.; ALBERTSON, S.; ARAVKIN, A.; BENDER, R.; CUNNINGHAM, M.; HAY, S.; KYU, H. H.; NOVOTNEY, A.; VONGPRADITH, A.; ZHENG, P.;

STERGACHIS, A. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, [S.l.], v. 399, p. 629–655, jan. 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JÚNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 108–113, jan./mar. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100020>.

OLIVEIRA, F. M. G.; BORLOT, J. R. P. O.; KITAGAWA, R. R.; GONÇALVES, R. C. R.; FILPO, R. C. B. O.; KUSTER, R. M. Characterization of phenolic compounds in *Eugenia uniflora* leaves by ESI(-) FT-ICR MS, analysis of cytotoxic activity on gastric adenocarcinoma (AGS cells), and anti-*Helicobacter pylori* activity. *Nat Prod Res*, p. 1-5, nov. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2276390>.

OLIVEIRA, I. M. M.; TEÓFILO, M. N. G.; SIQUEIRA, M. A. C.; MANSO, J. A. X.; OLIVEIRA, M. G.; BLANCH, G. T.; PAULA, J. R.; CARDOSO, A. M.; OLIVEIRA, M. A. P.; BORGES, L. L.; GOMES, C. M. Evaluation of the antimicrobial potential of extracts of *Myrciaria cauliflora* in strains of *Staphylococcus aureus* ATCC and *Staphylococcus aureus* BLAC. *Brazilian Journal of Biology*, v. 84, e286908, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.286908>.

OMS – Organização Mundial de Saúde. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report 2022. Geneva: OMS, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>.

OMS – Organização Mundial de Saúde. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis. Geneva: OMS, 2017. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>.

PORFÍRIO, Z.; MELO-FILHO, G. C.; ALVINO, V.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANNA, A. E. G. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., *Lythraceae*, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. *Rev. Bras. Farmacogn.*, v. 19, n. 3, p. 785-789, set. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2009000500023>.

POZZO, M. D.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D. F.; ROSSATTO, L.; SOARES, I. H.; ALVES, S. H.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus spp* isolados de mastite caprina. *Rev. Ciênc. Rural*, v. 41, n. 4, p. 667-672, mar. 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782011005000029>.

SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F. F.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; BRAGA, M. F. B. M.; GUEDES, G. M. M.; ROLÓN, M.; VEGA, C.; ARIAS, A. R.; COSTA, J. G. M.;

MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of *Eugenia uniflora* L. *Exp Parasitol.*, v. 131, n. 1, p. 130-132, may 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.02.019>.

SANTOS, R. D. dos; MATOS, B. N.; FREIRE, D. O.; SILVA, F. S. da; PRADO, B. A. do; GOMES, K. O.; ARAÚJO, M. O. de; BILAC, C. A.; RODRIGUES, L. F. S.; SILVA, I. C. R. da. Chemical characterization and antimicrobial activity of essential oils and nanoemulsions of *Eugenia uniflora* and *Psidium guajava*. *Antibiotics*, Basel, v. 14, p. 93, 2025. Disponível: <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010093>.

SANTOYO-GARCIA, J. H.; HALLIDAY, G. J.; LOAKE, G. J.; RIOS-SOLIS, L. Increased paclitaxel recovery from *Taxus baccata* vascular stem cells using novel in situ product recovery approaches. *Bioresources and Bioprocessing*, [S.l.], v. 10, p. 68, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00687-8>.

SILVA, C. A.; VÉRAS, J. H.; VENTURA, J. A.; BISNETO, A. V. M.; OLIVEIRA, M. G.; BAILÃO, E. F. L. C.; RIBEIRO E SILVA, C.; CARDOSO, C. G.; SANTOS, S. C.; CHEN-CHEN, L. Chemopreventive effect and induction of DNA repair by oenothien B ellagitannin isolated from leaves of *Eugenia uniflora* in Swiss Webster treated mice. *J Toxicol Environ Health A*, v. 86, n. 24, p. 929-941, sep. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/15287394.2023.2259425>.

SILVA, G. L.; CAMPIDELI, M. B.; FERRARI, A. B. S.; MANNOCHIO-RUSSO, H.; FRAIGE, K.; DAMETTO, A. C.; BOLZANI, V. S.; ZERAIK, M. L. In vitro antiglycation and antioxidant properties of *Eugenia pyriformis* leaves and fruits. *Nat Prod Res*, v. 36, n. 18, p. 4724-4728, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.2005049>.

SILVA, M. G.; SOUZA, A. R.; PEREIRA, L. F.; LIMA, C. T.; ALMEIDA, J. P. A importância dos ensaios de toxicidade para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 12, set. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20137>.

SILVA, M. V. S. G.; SILVA, S. A.; TEIXEIRA, T. L.; OLIVEIRA, A.; MORAIS, S. A. L. SILVA, C. V.; ESPINDOLA, L. S.; SOUSA, R. M. F. Essential oil from leaves of *Eugenia calycina* Cambes: Natural larvicidal against *Aedes aegypti*. *J. Sci. Food Agric.*, v. 101, n. 3, p. 1202-1208, sep. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10732>.

SOUZA, A. M.; ARMSTRONG, L.; MERINO, F. J. Z.; COGO, L. L.; MONTEIRO, C. L. B.; DUARTE, M. R.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. In vitro effects of *Eugenia pyriformis* Cambess, Myrtaceae: Antimicrobial activity and synergistic interactions with Vancomycin and Fluconazole. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, v. 8, n. 35, p. 862-867, sep. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJPP2014.4100>.

SOUZA, A. M.; OLIVEIRA, C. F.; OLIVEIRA, V. B.; BETIM, F. C. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D. Traditional Uses, Phytochemistry, and Antimicrobial Activities of

Eugenia Species – A Review. *Planta Med*, v. 84, n. 17, p. 1232-1248, nov. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/a-0656-7262>.

SOUZA, G. C.; HAAS, A. P. S.; VON POSER, G. L.; SCHAPOVAL, E. E. S.; ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J Ethnopharmacol.*, v. 90, n. 1, p. 135-143, jan. 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.039>.

SOUZA, J. H.; MICHELON, A.; BANHUK, F. W.; STAFFEN, I. V.; KLEIN, E. J.; SILVA, E. A.; MENOLLI, R. A. Leishmanicidal, Trypanocidal and Antioxidant Activity of Amyrin-Rich Extracts from *Eugenia pyriformis* Cambess. *Iran J Pharm Res*, v. 19, n. 4, p. 343-353, july 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113368.14258>.

TEÓFILO, M. N. G; BAILÃO, E. F. L. C.; PAULA, J. R.; GOMES, C. M.; SILVA, V. B.; TAFT, C. A.; PAULA, J. A. M.; BORGES, L. L.; Phytotechnological and Pharmaceutical Potential of *Eugenia Genus*. *Res. Top. Bioact. Environ. Energy*, p. 569-582, sep. 2022. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-031_07622-0_23.

THOMAZ, D. V.; PEIXOTO, L. F.; OLIVEIRA, T. S.; FAJEMIROYE, O.; NERI, H. F. S.; XAVIER, C. H.; COSTA, E. A.; SANTOS, F. C. A.; GIL, E. S. Antioxidant and Neuroprotective Properties of *Eugenia dysenterica* Leaves. *Oxid Med Cell Longev*, v. 2018, sep. 2018 Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/3250908>.

TOLEDO, A. G.; SOUZA, J. G. de L.; SANTANA, C. B.; MALLMANN, A. P.; SANTOS, C. V. dos; CORRÊA, J. M.; PINTO, F. G. da S. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. *Brazilian Journal of Biology*, [S.l.], v. 83, e245753, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.245753>.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v. 28, n. 3, p. 519–528, jun. 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000300026>.

ZANUSSO, P.; MARIÑO, P.; MALDANER, G.; GONÇALVES, R. Avaliação fitoquímica de extratos das folhas de *Eugenia uniflora* L. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 4, p. e14012441060, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v12i4.41060>.